Downloaded from: justpaste.it/kp061

بسم الله الرحمن الرحيم

(وَأَعِدُّواْ لَهُم مَّا ٱسْتَطَعْتُم مِّن قُوَّةٍ وَمِن رِّبَاطِ ٱلْخَيْلِ تُرْهِبُونَ بِهِۦ عَدُوَّ ٱللَّهِ وَعَدُوَّكُمْ)
صدق الله العظيم

مؤسسة الصقري للعلوم الحربية تقدم
طريقة تصنيع
الجمرة الخبيثة (أنثراكس ANTHRAX)

لتحميل الملف بصيغة PDF
أضغط هنا

- المواد المطلوبة:
- مياه معقمة
- Phosphate Buffered Saline (PBS) المحلول الملحي المخزن للفوسفات (يمكن شراؤه من موقع eBay أو عبر الإنترنت)
- Nutrient Agar - أغار مغذي
- Antibiotics مقدار من المضادات الحيوية (انظر أدناه للحصول على التعليمات)
- Penicillin البنسلين في شكل قابل للحقن (من ممون لوازم الحيوانات الأليفة / صيدلية عبر الإنترنت)

- Ampicillin أمبيسيلين في شكل قابل للحقن (من ممون لوازم الحيوانات الأليفة / صيدلية عبر الإنترنت)
- (Luria Broth) (LB Broth) (يمكن شراؤها عبر الإنترنت أو من محلات المستلزمات المختبرية)
- L-alanine (من متجر المواد الصحية / المكملات الغذائية)
- Inosine (من متجر المواد الصحية / المكملات الغذائية)

صنع مقدار من المضادات الحيوية:

اخذ من التربة:

1. أجمع عينات التربة من مناطق الغابات. وكلما كانت التربة أخشن كلما كان ذلك أفضل.
2. أضف 7.5 غرام من عينة التربة إلى 22.5 مل من الماء المعقم.
3. يرج لمدة 30 دقيقة.

-اختيار مكون لأبواغ عصوية (***Bacillus* (Bacteria) spore formers**) مقاومة للحرارة

4. 4. يتم تسخين الخليط ويرج لمدة 20 دقيقة في 64 درجة مئوية.

الاطباق **Plating**

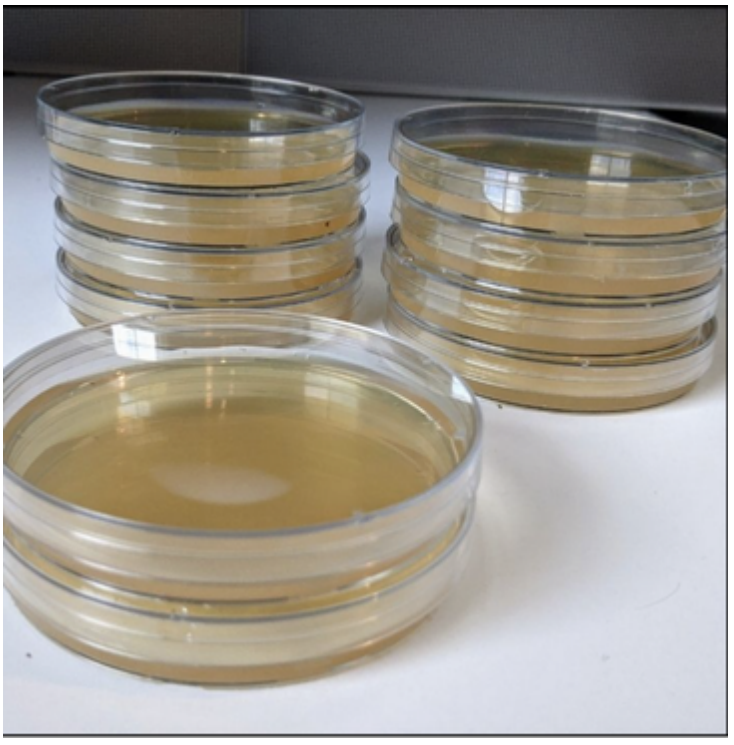
5. 5. يتم الترشيح المعلق بمرشح القهوة أو قماش الجبن لإزالة التربة والشوائب.
6. 6. يتم إضافة 1 مل من المادة المرشحة إلى 9 مل من (PBS).

(PBS)

7. 7. يتم أخذ 1 مل من ال 10 مل المكون في الخطوة 5 وإضافته إلى 9 مل من (PBS).
8. 8. أضف كمية صغيرة من المحلول من الخطوة 6 على أطباق الأغار(agar plates) وانشره بالتساوي. يمكن استخدام أي "وسائط معقدة" في أطباق الأغار ويقترح احد الوسائط التالية:

- Nutrient Agar " المستخدم في التصنيع في هذه التجربة "
- Tryptic Soy Agar
- Lysogeny Broth Agar
- Luria-Bertani Agar

(Nutrient Agar)



(أطباق أغار – agar plates)

(أطباق أغار اثناء التجارب)

9. 9. كرر الخطوة 8 تسع مرات حتى تكون الحصيلة النهائية 10 أطباق.
10. 10. يتم حضن الأطباق لمدة 48 ساعة عند 37 درجة مئوية.

الاختبار

11. كون مقدار 300 ملغ / لتر من المضادات الحيوية في الماء المعقم (انظر أدناه للحصول على التعليمات المفصلة):

حقنة مقاس 50 cc

المضادات الحيوية التي تحصل عليها من الانترنت تأتي بشكل مسحوق وتحتاج إلى إضافة الماء لتكوين المقدار السائل. يضاف الماء باستخدام حقنة وإبرة. اجلب حقنة 50 cc مع مقياس إبرة مناسبة، أبره حقن قياس 22 مناسبة، واسحب 41.0 مل من الماء، ومن ثم أحقنه في القارورة وهذه العملية سوف تعطيك 400 ملغ / مل من الأمبيسيلين ampicillin، وهذا سيكون المقدار الرئيسي الخاص بك ويجب تخفيفها إلى 300 ملغ / لتر ويمكنك القيام بذلك عن طريق إضافة 133 ميكرولتر من المقدار الرئيسي (400 ملغ / مل) إلى 10 مل من الماء. لا يجب أن يكون هذا دقيقاً. ثلاث قطرات من السائل تساوي ~ 150 ميكرولتر. يمكنك إضافة 3 قطرات من المقدار الرئيسي (400 ملغ / مل) إلى 10 مل من الماء. وهذا سيكون المقدار المستخدم لعملك (~ 300 ملغ / لتر من الأمبيسيلين).
خذ 3 قطرات من المقدار المستخدم للعمل وقم بإضافتهم إلى أطباقك وتأكد من أن القطرات الثلاث تنتشر بالتساوي على أطباق الأغار الصلبة أطباق الاغار " Agar plates" تشبه أطباق البتري"petri dishes" ويمكن العثور عليها على موقع (eBay). يمكنك استخدام مفرشة اطباق الاغار "plate spreader" لنشر القطرات لحين ما يجف الطبق.

(الأمبيسيلين- ampicillin)

(مفرشة اطباق الاغار "plate spreader")

(بنسلين " قابل للحقن - Penicillin)

كرر كل شيء للبنسلين. لا يتوجب عليك حقن الماء في البنسلين يمكنك سحب الماء بواسطة الحقنة بدون الإبرة وإضافة الماء مباشرة إلى القارورة ثم خلطه بشكل دقيق، وهذا سيكون مقدارك الرئيسي (400 ملغ/مل). عندما يتم حل البنسلين، خذ 133 ميكرولتر من المقدار الرئيسي (400 ملغ/مل) وأضفها إلى 10 مليلتر من الماء. لا يجب أن يكون هذا دقيقاً. ثلاث قطرات من السائل تساوي ~ 150 ميكرولتر. يمكنك إضافة 3 قطرات من المقدار الرئيسي (400 ملغ / مل) إلى 10 مل من الماء. وهذا سيكون المقدار المستخدم لعملك (حوالي 300 مل/لتر أمبيسيلين). خذ 3 قطرات من المقدار المستخدم للعمل وأضفها إلى أطباقك وتأكد من أن القطرات الثلاث تنتشر بالتساوي على أطباق الأغار الصلبة ويمكنك استخدام عصا بلاستيكية لنشر القطرات لحين ما يجف الطبق.

(بنسلين نوع اخر – Penicillin)

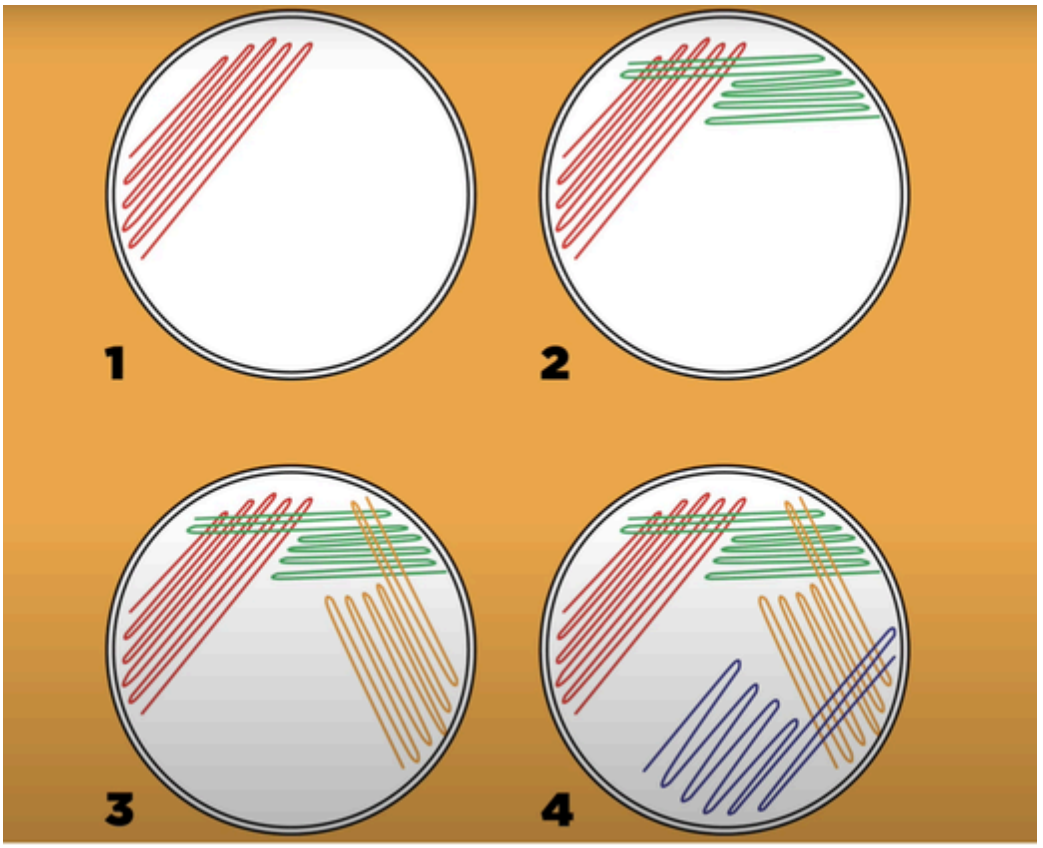
12. 12. أضف 3 قطرات من مقدار من الأمبيسيلين ومقدار من البنسلين إلى كل طبق من أطباق الأغار.
13. 13. يتم نشر قطرات المضادات الحيوية بالتساوي على الأطباق وتركها للجفاف.
14. 14. يتم معاينة المستعمرات البكتيرية المعزولة لخصائص الجمرة الخبيثة (anthracis): وهي مستعمرات صفراء قطرها 5 مم دائرية ومخاطية على نحو سلس في المظهر.

15. 15. عندما تجف الأطباق قم بوضع مسحة (streak)على المستعمرات التي يشتبه بها لعزلها على الأغار المغذي المضاف إليه الأمبيسيلين والبنسلين.

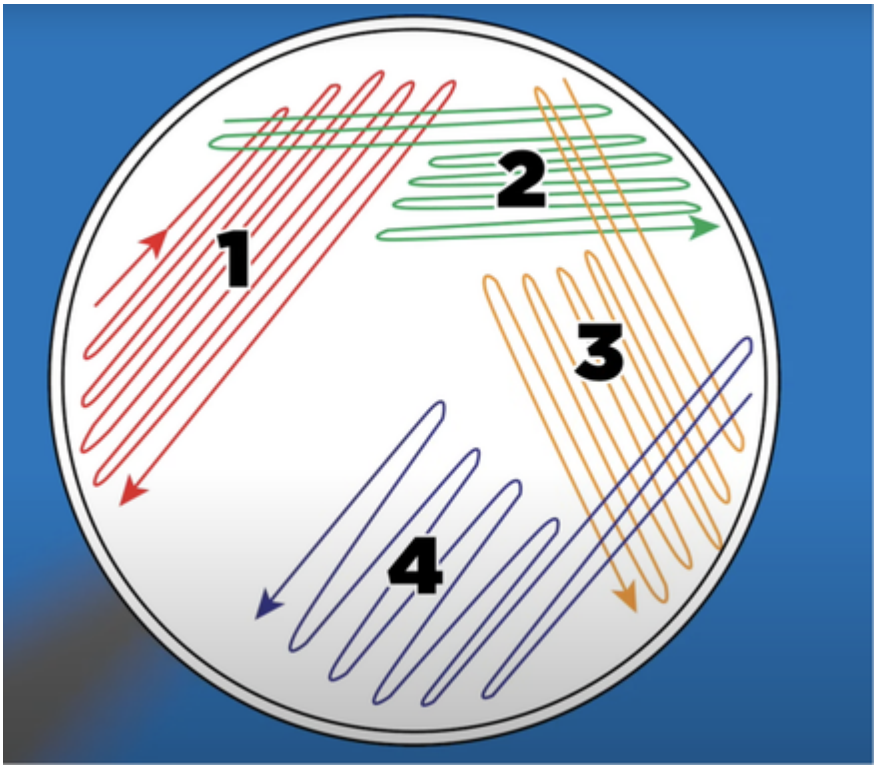
يتم تنفيذ المسحة (Streaking) للعزل عن طريق القيام بمسحة رباعية متتالية. تستخدم تقنية مسحة الأطباق لعزل والحصول على زرع نقي للكائنات الحية (معظمها بكتيريا) من مجموعة مختلطة.
يتم مسح المستعمرة البكتيرية على سطح الأغار بطريقة "تخفف" البكتيريا. بعض الخلايا البكتيرية تنفرد وتنفصل وتكون متباعدة جيدا من بعضها البعض.

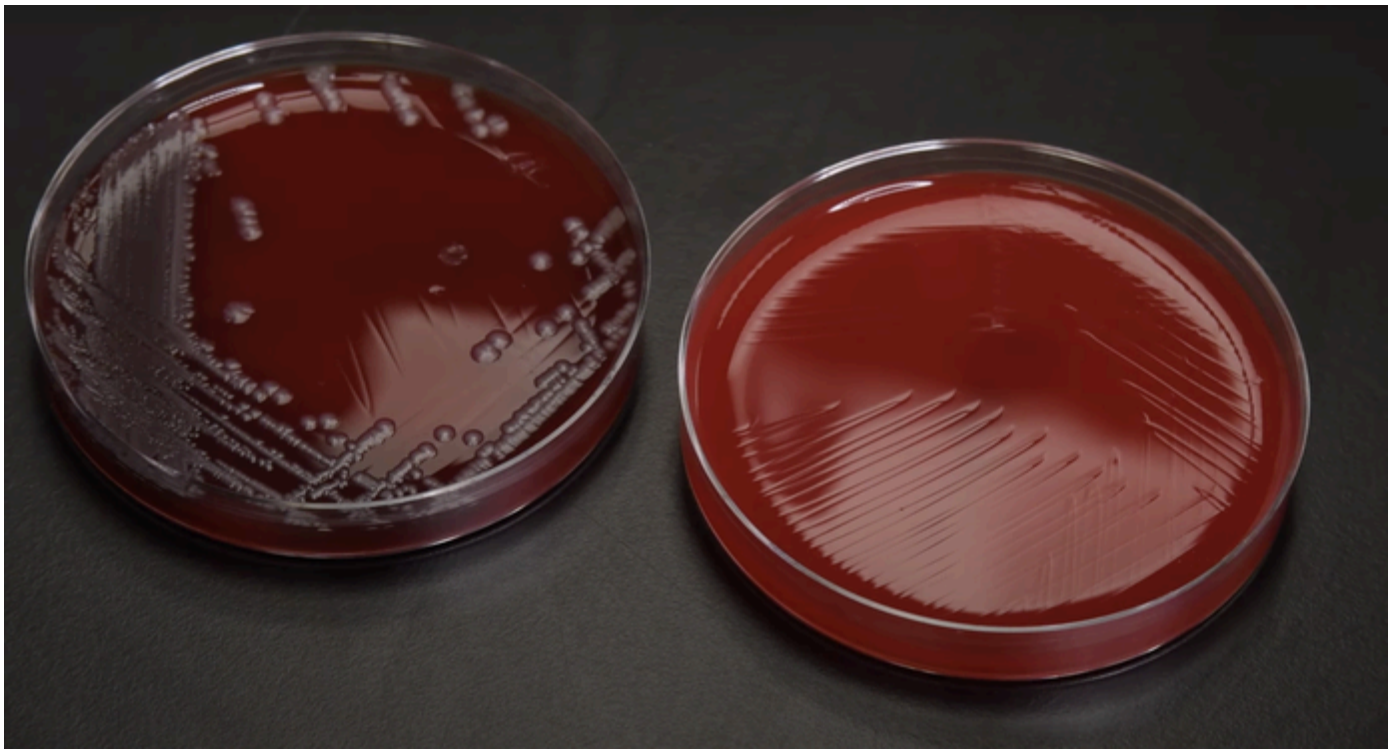
عندما يتم تخفيف العينة الأصلية عن طريق (streaking) مسحة واحدة بعد الأخرى على الأرباع بشكل متتالي ينخفض عدد الكائنات الحية عادة في الربع الثالث أو الرابع، يسبب هذا نقل عدد قليل فقط من الكائنات الحية والتي سوف تعطي وحدات تشكيل مستعمرة ((colony forming units (CFUs) منفصلة.
انظر الى الصورة ادناه للحصول على مزيد من التوضيح.
وهذه الطريقة تعرف باسم سلسلة المسحة الرباعية (quadrant streak-4):

16. 16. يتم احتضان الأطباق لمدة 48 ساعة في 37 درجة مئوية.

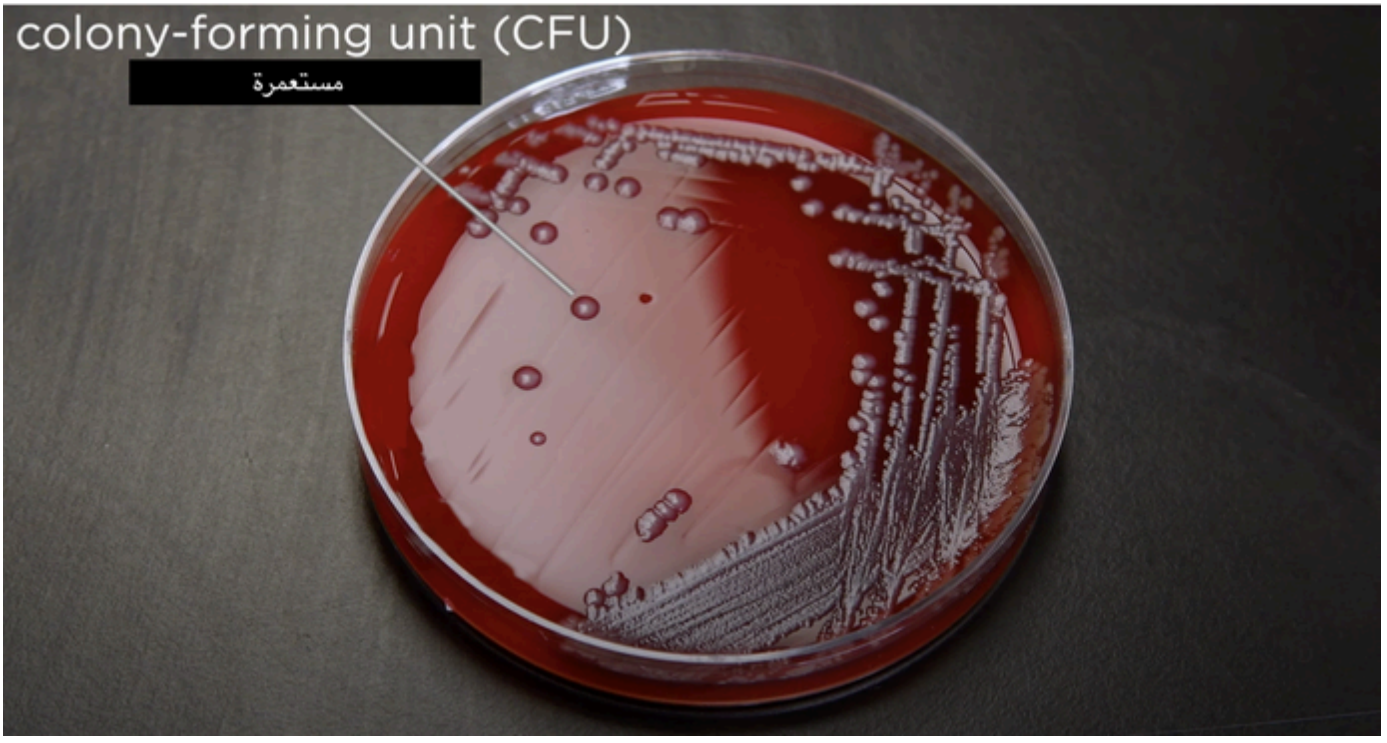


أمسح الاطباق بهذا الشكل كما هو موضح في الصور





(شكل الاطباق قبل وبعد نمو مستعمرات الجمرة الخبيثة)



تكوين الأبواغ (**sporulation**) لخلايا الجمرة الخبيثة(**B. anthracis**) النباتية:

17. 17. يتم حقن مستعمرات الجمرة الخبيثة (anthracis) المعزولة إلى 1 لتر من مادة (LB broth) والحضانة لمدة 18 ساعة عند 37 درجة مئوية والرج اثناء ذلك.

(LB broth)

18. 18. يتم أضافة 1/3 ملعقة صغيرة من مادة L-alanine و1 ملعقة صغيرة من مادة inosine والحضانة لمدة ساعة واحدة عند 37 درجة مئوية والرج أثناء ذلك وهذا من شأنه أن يحفز تكوين الأبواغ.

(المواد المستخدمة في العملية)

19. 19. يتم احتضان المزروع لمدة 20 دقيقة عند 64 درجة مئوية لضمان إعداد أبواغ نقية و تصبح المادة جاهزة للاستخدام.

والله ولي التوفيق

مؤسسة الصقري للعلوم الحربية

للتواصل مع مؤسسة الصقري أتصل بنا على تيليجرام على هذا الحساب وأرسل له كلمة رابط أو . كي يرسل لك بوت المؤسسة الحالي

@Sqr100